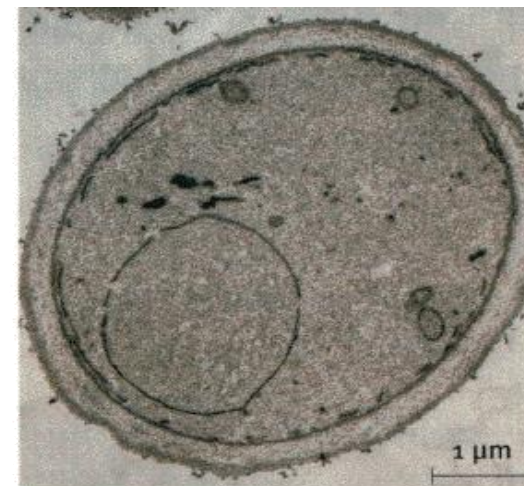


## THEME 1 - Energie et cellule vivante

### TP5 - La production d'ATP dans la cellule en condition anaérobie

Les levures (*Saccharomyces cerevisiae*) sont des êtres vivants unicellulaires qui se développent généralement en **condition aérobie** (avec O<sub>2</sub>) et réalisent la respiration cellulaire. Néanmoins, lorsqu'on les prive de dioxygène (**conditions anaérobies**), on constate qu'elles survivent et qu'elles produisent divers composants (éthanol, acide lactique ...). Par ailleurs, on constate que les levures sont alors **dépourvues de mitochondries** (voir ci-contre). On en déduit que les levures sont capables de produire de l'ATP à partir de réactions indépendantes des mitochondries et de la respiration cellulaire.



**Problème posé :** Comment certaines cellules produisent-elle l'ATP en absence de dioxygène?

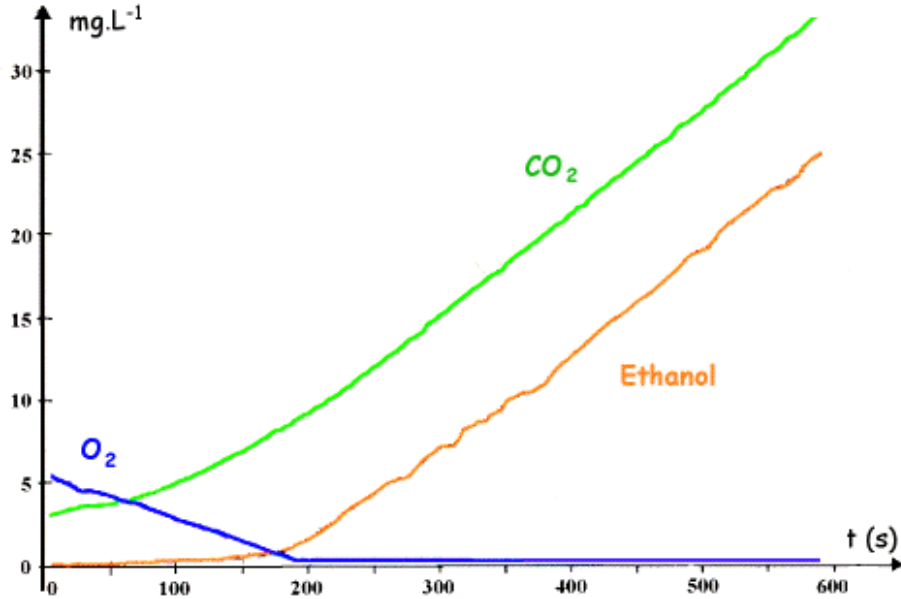
#### **Matériel et données :**

- Matériel courant de laboratoire (verrerie, microscope ...)
- Matériel ExAO (Sonde O<sub>2</sub>, CO<sub>2</sub>, Ethanol)
- Suspension de levure (*Saccharomyces sp.*), suspension de mitochondries isolées
- Différents réactifs : Glucose, succinate (équivalent du pyruvate), acide cyanhydrique (empêche la production d'ATP).
- Fiche Technique LatisBio – Fiche protocole ExAO
- Recueil documentaire sur les fermentations

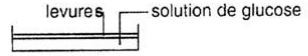
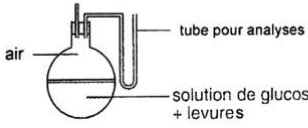
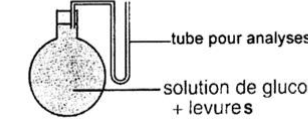
Propositions d'activités	Capacités
<p>➤ <b>ETAPE 1 :</b> Proposer une démarche de résolution du problème à partir du matériel disponible.</p> <p>➤ <b>ETAPE 2 :</b> A l'aide de la <u>fiche protocole</u>, réalisez la manipulation proposée afin d'identifier les éléments consommés et produits par les levures. <i>Appeler l'examineur pour vérification du montage puis des résultats</i></p> <p>➤ <b>ETAPE 3 :</b> Présentez vos résultats sous une forme adéquate.</p> <p>➤ <b>ETAPE 4 :</b> A l'aide des <u>expériences</u> et des <u>documents supplémentaires</u>, en déduire quelle(s) est(sont) les réaction(s) métabolique(s) à l'origine de la production d'ATP. Comparez leurs rendements (nombre d'ATP produits par molécule de glucose consommé) et déterminez le type de réaction réalisée (oxydation ou réduction).</p> <p>➤ Nettoyez et rangez le matériel utilisé</p>	<p><b>Concevoir une stratégie scientifique</b></p> <p><b>Réaliser une expérience en suivant un protocole, utiliser une chaîne ExAO</b></p> <p><b>Communiquer à l'écrit (présentation des résultats, impression du graphique, titre, légendes ...).</b></p> <p><b>Adopter une démarche explicative</b></p> <p><b>Gérer le matériel et l'espace de travail</b></p>

# LA FERMENTATION

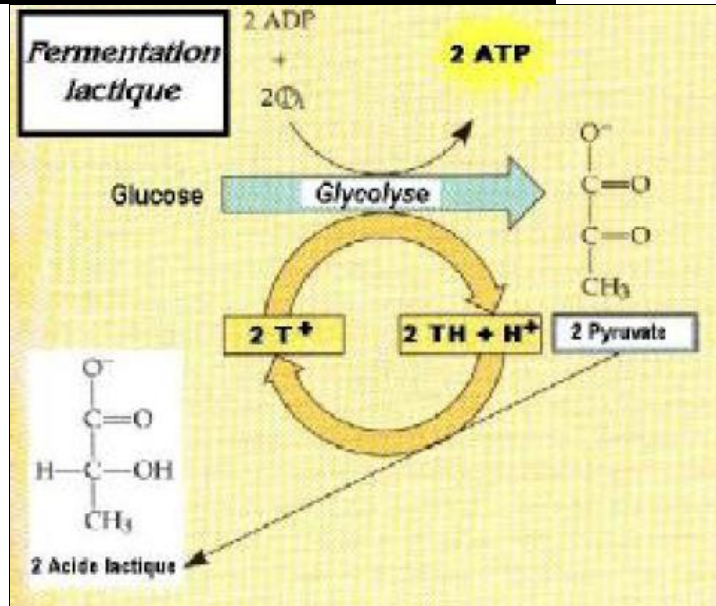
**Document 1 : Les échanges liés à la fermentation alcoolique**



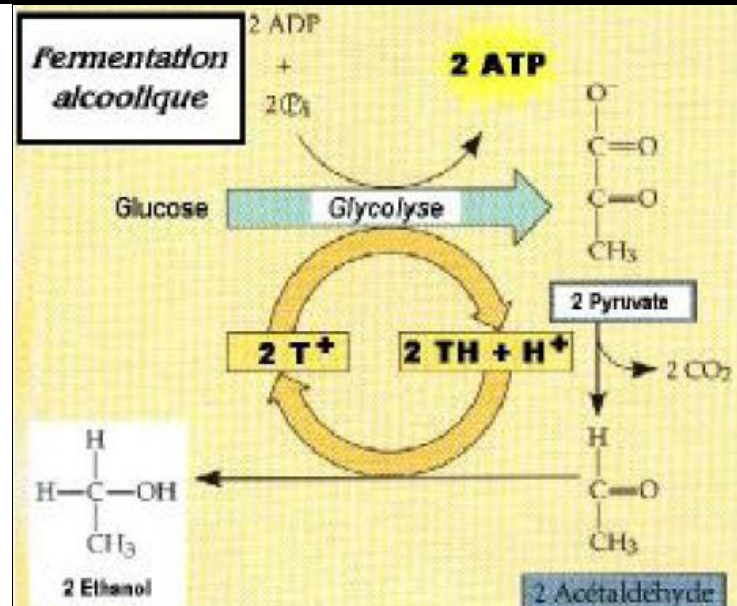
**Document 2 : Conditions de la fermentation alcoolique**

Résultats obtenus	Quantité d'éthanol (alcool) produite par les levures	Rendement de la culture exprimé par la quantité de levures formées (en mg par g de glucose consommé)
<b>Conditions expérimentales</b> <b>Expérience 1 : au contact du dioxygène de l'air</b> 	Traces	250
<b>Expérience 2 : air appauvri en dioxygène</b> 	++	40
<b>Expérience 3 : absence de dioxygène</b> 	+++++	5,7

**Document 3 : Réactions de la fermentation lactique**



**Document 4 : Réactions de la fermentation alcoolique (éthanolique)**



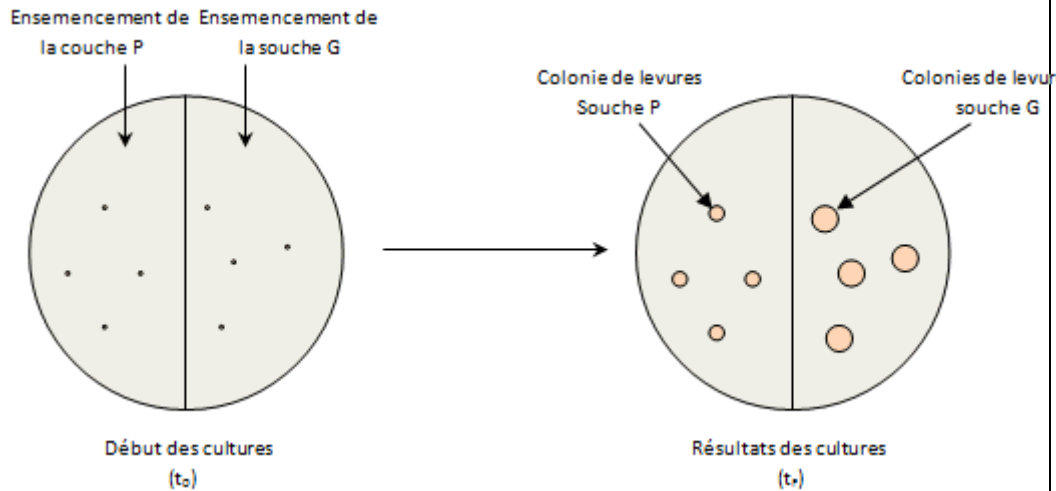
# LA FERMENTATION

## Document 5 : Comparaison de 2 métabolismes de levures

On dispose de deux souches de Levure de boulangerie (*Saccharomyces cerevisiae*) : la souche G et la souche P. Celles-ci se différencient par le fait que la souche G donne, en se multipliant des colonies de grande taille alors que la souche P donne des colonies de petite taille. Une colonie est le résultat de la multiplication des cellules. Ce sont donc des clones d'une cellule originelle. On cherche à montrer que la différence de taille des colonies de ces deux souches de levure dépend du métabolisme adopté.

### Document a : Culture de deux souches de levures

On cultive les deux souches de levure, dans la même boîte de Pétri, sur un milieu gélosé complet contenant notamment 5% de glucose et abondamment oxygéné. Les cultures sont placées à température constante. Les schémas ci-dessous montrent les cultures à l'instant initial ( $t_0$ ) et à l'instant final ( $t_f$ ).

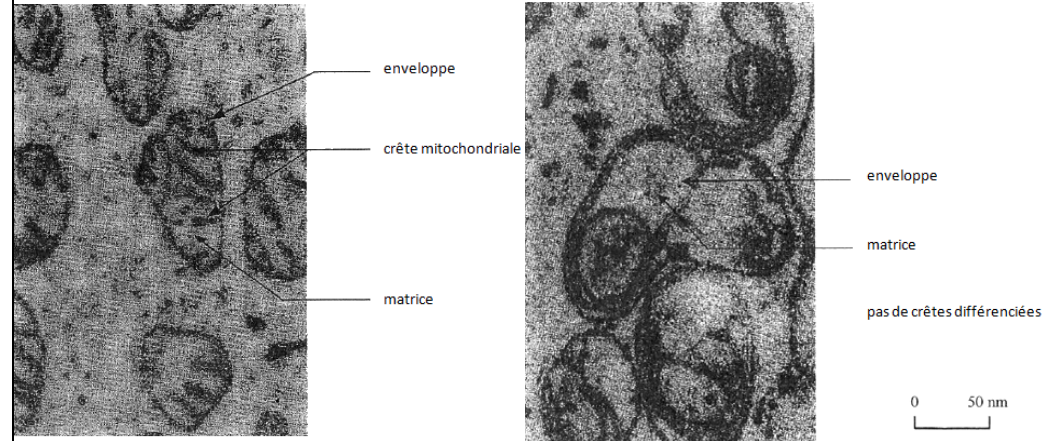


D'après *Biologie et biotechnologies des Levures*, CRDP Académie d'Aix-Marseille

### Document b : Comparaison en microscopie électronique à transmission du nombre et de l'aspect des mitochondries des cellules de levures G et P

	Cellule G	Cellule P
Mitochondries	environ 15 par cellule	environ 4 à 5 par cellule

Des photographies de MET ont permis d'identifier la structure de ces mitochondries (voir ci-contre).



Aspect des mitochondries des cellules G

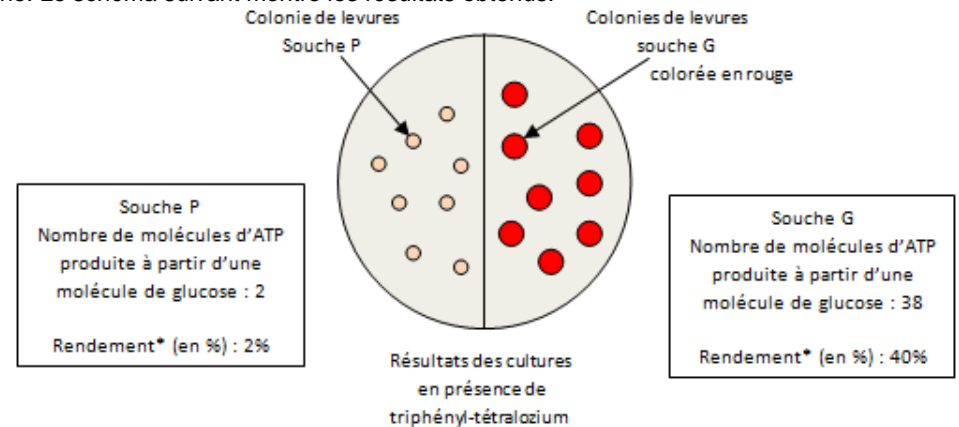
Aspect des mitochondries des cellules P

D'après *Biologie et biotechnologies des Levures*, CRDP Académie d'Aix-Marseille

### Document c : Comparaison de l'activité métabolique pour chaque souche de levure

Le triphényl-tétraloziium est utilisé par les levures comme accepteur final des électrons de la chaîne respiratoire des mitochondries à la place du dioxygène. Dans ces conditions, il est réduit en un composé de couleur rouge, le formazan.

Sur chaque colonie des cellules G et des cellules P, on applique le triphényl-tétraloziium. Parallèlement, des expériences sont réalisées pour mesurer la quantité d'ATP produite par les souches G et P. Par calcul, il a été déterminé le rendement énergétique respectif pour chaque souche. Le schéma suivant montre les résultats obtenus.



D'après *"Biologie des Levures"*, Didier Pol, Coll. Ellipses et *"Bioénergétiques, l'ATP dans la cellule"*, Coll. Synapse-Hachette Education

\* Rendement = % de l'énergie récupérée à partir des métabolites transformés utilisable par la cellule pour se développer.

## Protocole : Mise en évidence des réactions de production d'énergie en conditions anaérobies

### **1- Réalisez le montage ExAO**

- Placez la suspension de levures dans l'enceinte (bioréacteur)
- Mettez en place l'agitation
- Refermez l'enceinte
- Placez la sonde à O<sub>2</sub>, la sonde à CO<sub>2</sub> (si disponible) et la sonde à éthanol (si disponible)
- Paramétrez les sondes pour une acquisition en milieu liquide (mg/mL et non %)
- Etalonnez les sondes si nécessaire
- Préparer une seringue contenant 1 mL de solution de glucose

**Appeler le professeur pour vérification**

### **2- Réalisez l'acquisition de données**

- Lancez l'acquisition pour un total de 10 minutes
- A t=2 minutes, injectez doucement la solution de glucose
- Au même moment, placez un marqueur sur le graphique d'acquisition
- En fin d'expérience, adaptez les échelles de votre graphique puis imprimez votre production

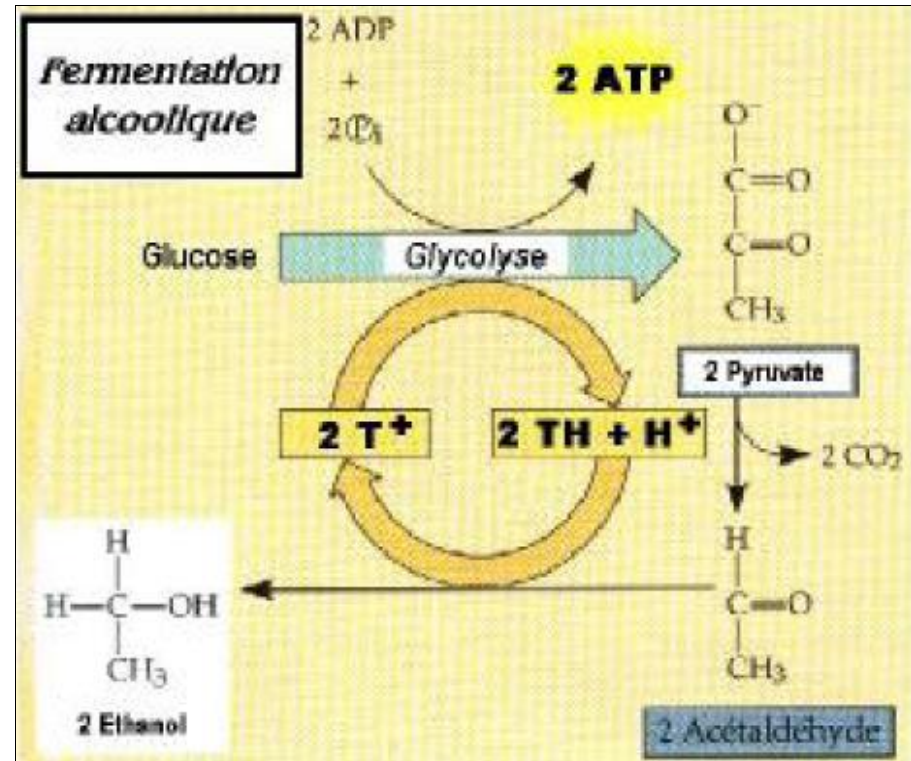
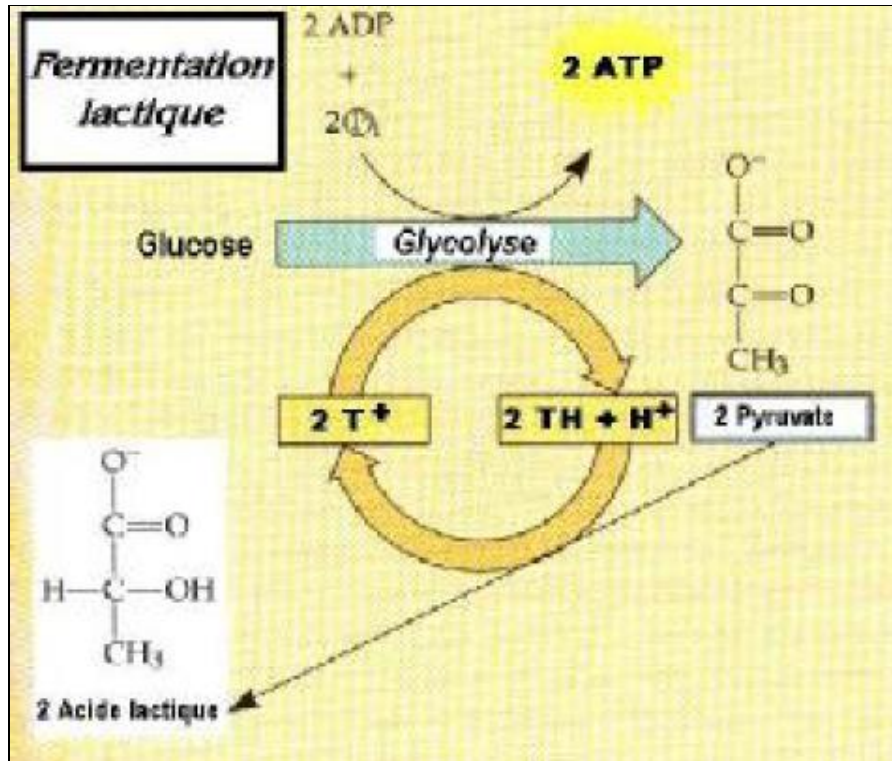
**Appeler le professeur pour vérification**

### **3- Nettoyez et rangez**

- En fin d'expérience, rincez les sondes à l'eau distillée et remettez les en place comme au début de la séance
- Récupérez l'agitateur magnétique et videz la suspension de levure à l'évier
- Rincez le bioréacteur et remettez le en place comme au début de la séance

**Appeler le professeur pour vérification**

## BILAN FERMENTATION (cours)



Réaction	Respiration	F. Lactique	F. alcoolique
Substrat	Glucose	Glucose	Glucose
O <sub>2</sub> utilisé	Oui	Non	Non
Oxydation	Totale	Partielle	Partielle
CO <sub>2</sub> rejeté	Oui	Non	Oui
Déchets produits	CO <sub>2</sub>	Lactate	Ethanol + CO <sub>2</sub>
ATP produits	36	2	2
TH <sub>2</sub> utilisés	12	2	2